

(51)

Int. Cl.:

C 12  
A 61 k, 21/00

BUNDESREPUBLIK DEUTSCHLAND

DEUTSCHES



PATENTAMT

(52)

Deutsche Kl.: 30 h, 7/00  
30 h, 6

(10)

# Offenlegungsschrift 2212854

(11)

Aktenzeichen: P 22 12 854.7

(21)

Anmeldetag: 16. März 1972

(22)

Offenlegungstag: 2. November 1972

(43)

Ausstellungsriorität: —

(30)

Unionspriorität

(32)

Datum: 17. März 1971

(33)

Land: Sowjetunion

(31)

Aktenzeichen: 1626871

(54)

Bezeichnung: Verfahren zur Herstellung des Antibiotikums Heliomyzin

(61)

Zusatz zu: —

(62)

Ausscheidung aus: —

(71)

Anmelder: Wsesojusnyj Nautchno-Issledovatelskij Institut po Isyskaniju Nowych antibiotikow Akademii Medisinskich Nauk SSSR, Moskau

Vertreter gem. § 16 PatG: Dittmann, O., Dr.; Schiff, K. L.; Füner, A. v., Dipl.-Chem. Dr.; Strehl, P., Dipl.-Ing. Dipl.-Wirtsch.; Patentanwälte, 8000 München

(72)

Als Erfinder benannt: Gauze, Georgij Fransewitsch;  
Preobraschenskaja geb. Lebedewa, Tatjana Pawlowna;  
Maksimowa geb. Mirenburg, Tatjana Semjonowna;  
Ucholina, Rosa Sergejewna; Moskau;  
Netschajewa geb. Aksjonowa, Natalja Petrowna,  
Chimki Moskowskoj oblasti;  
Kowscharowa geb. Komarowa, Ija Nikolajewna, Moskau (Sowjetunion)

(56)

Rechercheantrag gemäß § 28 a PatG ist gestellt

Für die Beurteilung der Patentfähigkeit in Betracht zu ziehende Druckschriften:

DT 2212854

2212854

B e s c h r e i b u n g  
zu der

Patentanmeldung  
des

Wsesojujnyj Nautschno-Issledowatelskij Institut  
po Isyskaniju Nowych antibiotikow Akademii Medi-  
zinskich Nauk SSSR, UdSSR, Moskau, Bolschaja Firo-  
gowskaja uliza, 11

betreffend

VERFAHREN ZUR HERSTELLUNG DES ANTIBIOTIKUMS HELIOMYZIN

Priorität vom 17. März 1971 UdSSR Nr. 1626871

Die vorliegende Erfindung bezieht sich auf ein Verfahren zur Herstellung des Antibiotikums Heliomyzin, welches in Form einer 4%igen Salbe zur Heilung von Verbrennungen, verschiedener Formen von Pyodermie und auf dem Gebiete der medizinischen Kosmetik Verwendung findet, da es antibakterielle und gefäßverengende Wirkung in sich vereinigt.

Es ist ein Verfahren zur Herstellung des Antibiotikums Heliomyzin aus der Kultur des Strahlenpilzes *Actimomyces flavochromogenes* var *heliomycini* bekannt. Die Ausgangskultur züchtet man im Submersverfahren auf einem Nährmedium, welches 1,0 Gewichtsprozent Sojamehl; 1,5 bis 2,0 Gewichtsprozent Stärke; 0,1 Gewichtsprozent Kaliumdihydrogenphosphat; 0,3 Gewichtsprozent Natriumchlorid; 0,3 Gewichtsprozent Kalziumkarbonat; 0,1 Gewichtsprozent Pottwaltran; bis 100 ml Wasser enthält.

209845 / 1169

Dasselbe Nährmedium kann zum Züchten von Impfmyzelium verwendet werden.

Aus der erhaltenen Kulturflüssigkeit trennt man das Myzelium durch Filtrieren ab. Das Antibiotikum extrahiert man mit Azeton aus dem Myzelium, das eine Feuchtigkeit von 60 Gewichtsprozent aufweist. Die Extraktion wird 4 Mal durchgeführt. Für jede Extraktion nimmt man dreifaches Volumen von Azeton zum Gewicht des feuchten Myzeliums. Der erste wenig aktiven Extrakt wird verworfen und dem Gemisch des zweiten und dritten Extraktes doppeltes Volumen von destilliertem Wasser zugegeben. Mit dem vierten Extrakt wird die sekundäre Extraktion des Myzeliums der nächsten Fermentation durchgeführt. Das ausgefallene kristalline Heliomyzin wird abfiltriert und mit destilliertem Wasser gewaschen. Wenn das Rohheliomyzin infolge einer Verunreinigung durch Öl schlecht trocknet, wird es zusätzlich mit Petroläther gewaschen.

Die Ausbeute an Rohheliomyzin beträgt 3 Gewichtsprozent, bezogen auf das feuchte Myzelium. Das Rohpräparat enthält 80 bis 85 Gewichtsprozent Heliomyzin. (Siehe Urheberschein der UdSSR No. 266149).

Ein Nachteil des bekannten Verfahrens zur Herstellung von Heliomyzin aus der Kultur *Actinomyces flavochromogenes* var *heliomycini* ist eine große Variabilität des Stammes. Bei häufigem Überimpfen und längerer Lagerung wird die Kultur in aktive und wenigaktive Varianten gespalten. Die größte Fähigkeit, das Antibiotikum in dem Lyzelium zu speichern, ist den

209845 / 1169

Varianten eigen, deren Kolonien beim Wachstum auf einem festen organischen Nährmedium kein Luftmyzelium besitzen, auf mineralischem Nährmedium ein spärliches Luftmyzelium aufweisen und ein graubraunes Pigment ausscheiden. In diesem Zusammenhang ist die Ausbeute an Rohantibiotikum niedrig (3 Gewichtsprozent, bezogen auf das feuchte Myzelium bei der Verwendung aktiver Varianten der Kultur *Actinomyces flavochromogenes* var *heliomycini*).

Ziel der vorliegenden Erfindung ist es, die genannten Nachteile zu vermeiden.

In Übereinstimmung mit dem Ziel wurde die Aufgabe gestellt, durch die Verwendung eines neuen Stammes die Ausbeute an Endprodukt zu steigern.

Diese Aufgabe wurde dadurch gelöst, daß man in dem Verfahren zur Herstellung des Antibiotikums Heliomyzin durch Bereitung von Impfmaterial der Kultur des Heliomyzinproduzenten, Beimpfen mit diesem von Nährmedium unter anschließender Fermentation, Abtrennung des Myzeliums und Isolierung aus diesem des Endproduktes erfindungsgemäß als Kultur des Heliomyzinproduzenten den Stamm 6383 *Actinomyces variabilis* var *roseolus* verwendet, der durch folgende kulturmorphologische und physiologische Eigenschaften gekennzeichnet wird: er bildet auf dem mineralischen Nährmedium Gause No. 1 ein reichliches graues Luftmyzelium, das Substratmyzelium ist farblos, er färbt das Nährmedium schwach braun-rosa oder

209845/1169

violett-braun, die Sporeenträger sind spiralförmig mit 2 bis 4 Windungen der Spirale, die Sporen sind mit langen Härchen bedeckt; auf dem organischen Nährmedium Gause No. 2 ist das Luftmyzelium zunächst cremefarben, dann grau, das Substratmyzel ist graubraun-gelb bis dunkelgrau-braun; auf dem Czapek-Nährmedium und Lindenbein-Nährmedium ist das Luftmyzelium reichlich grau, das Substratmyzelium braun; auf dem Glukose-Asparagin-Agar ist das Luftmyzelium spärlich, zunächst cremefarben, dann grau, das Substratmyzelium graubraun-gelb, färbt das Nährmedium nicht, nimmt auf flüssigen Nährmedien bei einer Temperatur von 28°C Laktose, Galaktose, Saccharose gut, Glukose mäßig und Dulzit schwach auf; abgetrennt aus dem Boden und selektiert durch natürliche Wahl und Ultraviolettbestrahlung.

Das erfindungsgemäße Verfahren wird wie folgt durchgeführt.

Als Ausgangskultur verwendet man den Stamm Nr. 6383 *Actinomyces variabilis* var *roseous*l. Diese Kultur unterscheidet sich von der früher beschriebenen Kultur Nr. 2915 *Actinomyces flavochromogenes* var *heliomycini* durch die Bildung eines braunen Substratmyzeliums und löslicher Pigmente bräunlichrosafarbener oder violett-brauner Farbtöne beim Wachstum auf synthetischen Nährmedien sowie durch reichliches Sporengesamten des grauen Luftmyzeliums auf diesen Nährmedien.

Die Ausgangskultur wird im Submersverfahren auf dem Sojamehl-Stärke-Nährmedium gezüchtet.

209845/1169

Das gleiche Nährmedium kann zur Züchtung von Impfmyzelium verwendet werden.

Das Antibiotikum ist im Myzelium enthalten, welches von der Kulturflüssigkeit durch Filtrieren abgetrennt wird. Das Antibiotikum extrahiert man mit Azeton aus dem Myzelium, das eine Feuchtigkeit von etwa 60 Gewichtsprozent aufweist. Die Extraktion wird 4 Mal durchgeführt. Für jede Extraktion nimmt man ein dreifaches Volumen von Azeton zum Gewicht des feuchten Myzeliums. Der erste wenig aktive Extrakt wird verworfen und dem Gemisch des zweiten und dritten Extraktes doppeltes Volumen von destilliertem Wasser zugesetzt.

Mit dem vierten Extrakt führt man die sekundäre Extraktion des Myzeliums der nächsten Fermentation durch. Es fällt kristallines Heliomyzin aus, welches abfiltriert und mit destilliertem Wasser gewaschen wird. Falls das Rohantibiotikum infolge einer Verunreinigung durch Öl schlecht trocknet, wird dieses zusätzlich mit Petroläther gewaschen. Die Ausbeute an Rohheliomyzin beträgt 4 Gewichtsprozent, bezogen auf das feuchte Myzelium. Das Rohpräparat enthält 80-85 Gewichtsprozent Heliomyzin, bezogen auf das chemisch reine kristalline Präparat.

Ein Vorteil des vorliegenden Verfahrens ist die Verwendung eines neuen und produktiveren Stammes, des Stammes Nr. 6383 *Actinomyces variabilis* var *roseous*, bei dessen Verwendung die Ausbeute an kristallinem Heliomyzin auf 4 Gewichtsprozent, bezogen auf das feuchte Myzelium, gesteigert werden kann.

209845/1169

Beispiel

Zur Herstellung von Sporenmaterial züchtet man den Stamm Nr. 6383 *Actinomyces variabilis* var *roseolus* in Reagenzgläsern mit abgeschrägtem synthetischem Nährmedium Gause Nr. 1 während 10 Tage bei einer Temperatur von 28°C. Zur Herstellung von Impfmyzelium werden mit den Sporen der Kultur Erlenmeyerkolben von 500 ml Fassungsvermögen beimpft, die 100 ml Nährmedium der folgenden Zusammensetzung (in Gewichtsprozenten) enthalten: Sojamehl 1,0; Stärke 1,0; Natriumchlorid 0,3; Kalziumkarbonat 0,3; Kaliumdihydrogenphosphat; Wasser bis 100 ml, pH des Nährmediums nach der Sterilisation 7,0.

Das Impfmyzelium züchtet man in den Kolben 2 Tage bei einer Temperatur von 28°C auf Schaukeln, die bei 200 U/min arbeiten.

5 Gewichtsprozent des gezüchteten Impfmyzeliums (400 ml im Kolben) bringt man in Impf fermenter von 45 Liter Fassungsvermögen ein, die 20 Liter Nährmedium der folgenden Zusammensetzung (in Gewichtsprozenten) enthalten: Sojamehl 1,0; Stärke 1,0; NaCl 0,3; CaCO<sub>3</sub> 0,3; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0,1; Pottwaltran 0,1; Wasser bis 100 ml; pH des Mediums nach der Sterilisation 7,0.

Man sterilisiert 45 Minuten bei einer Temperatur von 120°C. Dann erfolgt die Züchtung bei einer Temperatur von 28°C unter einem Druck von 0,3 bis 0,5 at, bei einem Belüftungsgrad von 1 Liter Luft je 1 Liter Nährmedium in der Minute bei eingeschaltetem Rührwerk, das bei 300 U/min arbeitet.

209845/1169

2212854

- 4 -

4

Nach 48 Stunden Züchten wird das Impfmateriel den Fermentern zugeführt. In die Fermenter von 500 Liter Fassungsvermögen bringt man Nährmedium der folgenden Zusammensetzung (in Gewichtsprozenten) ein: Sojamehl 1,0; Stärke 2,0; NaCl 0,3; CaCO<sub>3</sub> 0,3; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0,1; Pottwaltran 0,1; Wasser bis 100 ml, pH des Nährmediums nach der Sterilisation 7,0.

Man sterilisiert 45 Minuten bei einer Temperatur von 120°C. Die Beimpfung erfolgt aus den Impfapparaten, wobei man 20 Liter Impfmateriel je 300 Liter Nährmedium (5 bis 7 Gewichtsprozent Impfmateriel) nimmt. Die Fermentation erfolgt bei einer Temperatur von 28°C unter einem Druck von 0,3 bis 0,5 at, bei einem Belüftungsgrad von 1 Liter Luft je 1 Liter Nährmedium in der Minute bei eingeschaltetem Rührwerk, das bei 300 U/min arbeitet. Die Fermentation dauert 96 bis 120 Stunden.

Man filtriert die Kulturflüssigkeit und erhält gegen 30 kg Myzelium mit einer Feuchtigkeit von etwa 60 Gewichtsprozent.

Das Myzelium extrahiert man mit Azeton 4 Male. Für jede Extraktion nimmt man dreifaches Volumen von Azeton (90 Liter) zum Gewicht des feuchten Myzeliums. Der erste wenigaktive Extrakt wird verworfen und dem Gemisch des zweiten und dritten Extrakttes doppeltes Volumen von destilliertem Wasser (360 Liter) zugesetzt. Dabei fällt das Rohheliozymin aus, welches man abfiltriert und mit destilliertem Wasser wäscht. Falls das Rohpräparat infolge einer Verunreinigung durch Öl schlecht

209845 / 1169

2212854

- 8 -

trocknet, wird es zusätzlich mit 5 bis 10 fachem Volumen von Petroleumäther zum kristallinen Rohpräparat gewaschen.

Die aus 30 kg feuchtem Myzelium (Feuchtigkeit 60%)

erzielte Ausbeute an Rohpräparat beträgt 1200 g. Das Rohpräparat enthält 80 bis 85 Gewichtsprozent Heliomyzin, umgerechnet auf chemisch reines kristallines Präparat.

209845/1169

2212854

P A T E N T A N S P R U C H:

Verfahren zur Herstellung des Antibiotikums Heliomyzin durch Bereitung von Impfmaterial der Kultur des Heliomyzinproduzenten, Beimpften mit diesem von Nährmedium unter anschließender Fermentation, Abtrennung des Myzeliums und Isolierung des Endproduktes, dadurch gekennzeichnet, daß man als Kultur des Heliomyzinproduzenten den Stamm 6383 *Actinomyces variabilis* var *roseolus* verwendet, der durch folgende kulturmorphologische und physiologische Eigenschaften gekennzeichnet wird: er bildet auf dem mineralischen Nährmedium Gause Nr. 1 ein reichliches graues Luftmyzelium, das Substratmyzelium ist farblos, er färbt das Nährmedium schwach braun-rosa oder violettbraun, die Sporeenträger sind spiralförmig mit 2 bis 4 Windungen der Spirale, die Sporen sind mit langen Härchen bedeckt; auf dem organischen Nährmedium Gause Nr. 2 ist das Luftmyzelium zunächst cremefarben, dann grau, das Substratmyzel ist graubraun-gelb bis dunkelgraubraun; auf dem Czapek-Nährmedium und Lindenbein-Nährmedium ist das Luftmyzelium reichlich, grau, das Substratmyzelium braun; auf dem Glukose-Aspargin-Agar ist das Luftmyzelium spärlich, zunächst cremefarben, dann grau, das Substratmyzelium graubraungelb, färbt das Nährmedium nicht, nimmt auf flüssigen Nährmedien bei einer Temperatur von 28°C Laktose, Galaktose, Saccharose gut, Glukose mäßig und Dulzit schwach auf; abgetrennt aus dem Boden und selektioniert durch natürliche Wahl und Ultra-violettbestrahlung.

209845/1169

ORIGINAL INSPECTED

2212854

Beschreibung  
zu derPatentanmeldung  
des

Wsesojusnyj Nautschno-Issledowatelskij Institut  
po Isyskaniju Nowych antibiotikow Akademii Medi-  
zinskich Nauk SSSR, UdSSR, Moskau, Bolschaja Firo-  
gowskaja uliza, 11

betreffend

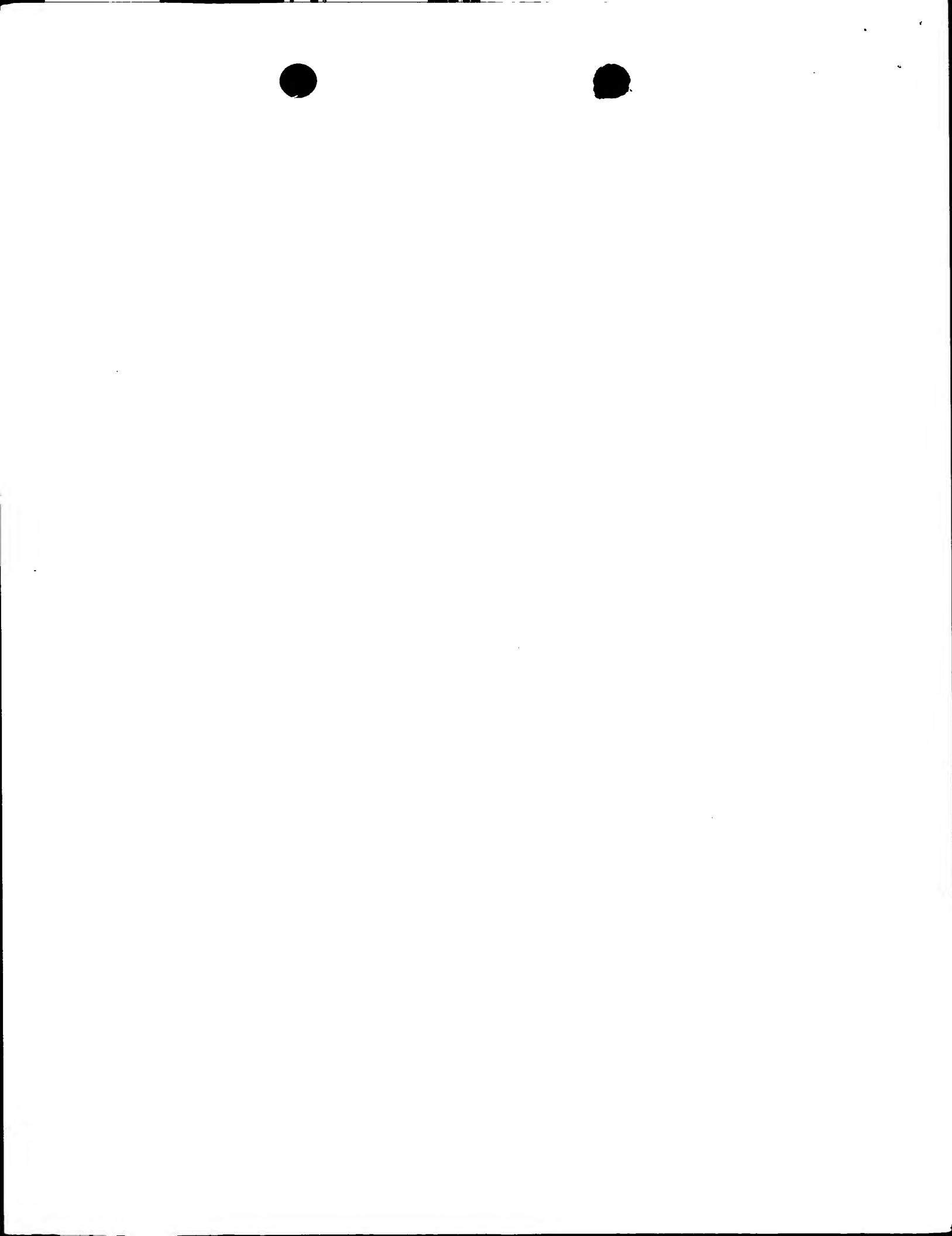
## VERFAHREN ZUR HERSTELLUNG DES ANTIBIOTIKUMS HELIOMYZIN

Priorität vom 17. März 1971 UdSSR Nr. 1626871

Die vorliegende Erfindung bezieht sich auf ein Verfahren zur Herstellung des Antibiotikums Heliomyzin, welches in Form einer 4%igen Salbe zur Heilung von Verbrennungen, verschiedener Formen von Pyodermie und auf dem Gebiete der medizinischen Kosmetik Verwendung findet, da es antibakterielle und gefäßverengende Wirkung in sich vereinigt.

Es ist ein Verfahren zur Herstellung des Antibiotikums Heliomyzin aus der Kultur des Strahlenpilzes *Actinomyces flavochromogenes* var *heliomycini* bekannt. Die Ausgangskultur züchtet man im Submersverfahren auf einem Nährmedium, welches 1,0 Gewichtsprozent Sojamehl; 1,5 bis 2,0 Gewichtsprozent Stärke; 0,1 Gewichtsprozent Kaliumdihydrogenphosphat; 0,3 Gewichtsprozent Natriumchlorid; 0,3 Gewichtsprozent Kalziumkarbonat; 0,1 Gewichtsprozent Pottwaltran; bis 100 ml Wasser enthält.

209845/1169



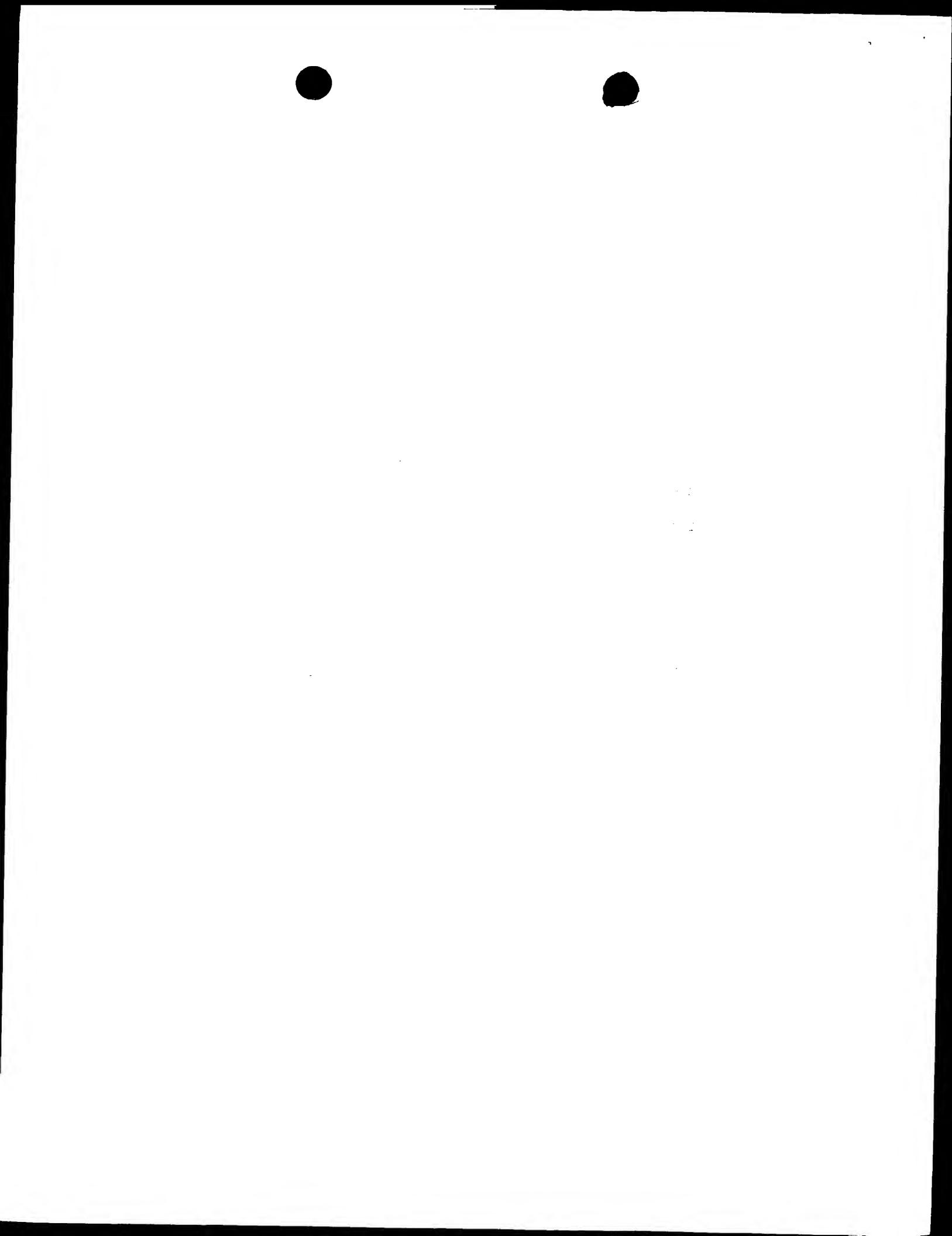
Dasselbe Nährmedium kann zum Züchten von Impfmyzelium verwendet werden.

Aus der erhaltenen Kulturflüssigkeit trennt man das Myzelium durch Filtrieren ab. Das Antibiotikum extrahiert man mit Azeton aus dem Myzelium, das eine Feuchtigkeit von 60 Gewichtsprozent aufweist. Die Extraktion wird 4 Mal durchgeführt. Für jede Extraktion nimmt man dreifaches Volumen von Azeton zum Gewicht des feuchten Myzeliums. Der erste wenig aktiven Extrakt wird verworfen und dem Gemisch des zweiten und dritten Extraktes doppeltes Volumen von destilliertem Wasser zugegeben. Mit dem vierten Extrakt wird die sekundäre Extraktion des Myzeliums der nächsten Fermentation durchgeführt. Das ausgefallene kristalline Heliomyzin wird abfiltriert und mit destilliertem Wasser gewaschen. Wenn das Rohheliomyzin infolge einer Verunreinigung durch Öl schlecht trocknet, wird es zusätzlich mit Petroläther gewaschen.

Die Ausbeute an Rohheliomyzin beträgt 3 Gewichtsprozent, bezogen auf das feuchte Myzelium. Das Rohpräparat enthält 80 bis 85 Gewichtsprozent Heliomyzin. (Siehe Urheberschein der UdSSR No. 266149).

Ein Nachteil des bekannten Verfahrens zur Herstellung von Heliomyzin aus der Kultur *Actinomyces flavochromogenes* var *heliomycini* ist eine große Variabilität des Stammes. Bei häufigem Überimpfen und längerer Lagerung wird die Kultur in aktive und wenig aktive Varianten gespalten. Die größte Fähigkeit, das Antibiotikum in dem Lyzelium zu speichern, ist den

209845 / 1169



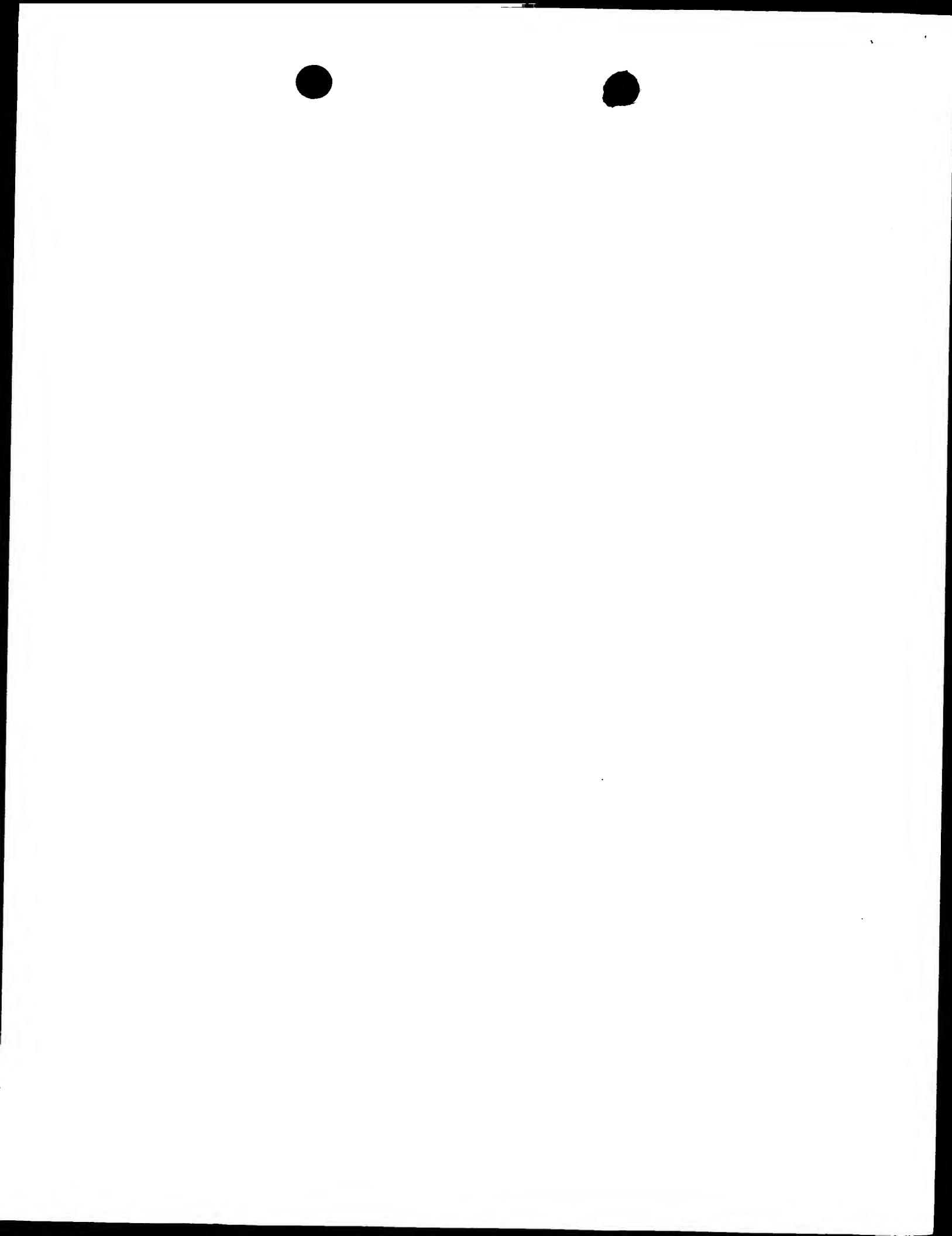
violett-braun, die Sporeenträger sind spiralförmig mit 2 bis 4 Windungen der Spirale, die Sporen sind mit langen Härchen bedeckt; auf dem organischen Nährmedium Gause No. 2 ist das Luftmyzelium zunächst cremefarben, dann grau, das Substratmyzel ist graubraun-gelb bis dunkelgraubraun; auf dem Czapek-Nährmedium und Lindenbein-Nährmedium ist das Luftmyzelium reichlich grau, das Substratmyzelium braun; auf dem Glukose-Asparagine-Agar ist das Luftmyzelium spärlich, zunächst cremefarben, dann grau, das Substratmyzelium graubraun-gelb, färbt das Nährmedium nicht, nimmt auf flüssigen Nährmedien bei einer Temperatur von 28°C Laktose, Galaktose, Saccharose gut, Glukose mäßig und Dulzit schwach auf; abgetrennt aus dem Boden und selektiert durch natürliche Wahl und Ultraviolettbestrahlung.

Das erfindungsgemäße Verfahren wird wie folgt durchgeführt.

Als Ausgangskultur verwendet man den Stamm Nr. 6383 *Actinomyces variabilis* var roseousl. Diese Kultur unterscheidet sich von der früher beschriebenen Kultur Nr. 2915 *Actinomyces flavochromogenes* var heliomycini durch die Bildung eines braunen Substratmyzeliums und löslicher Pigmente bräunlichrosafarbener oder violett-brauner Farbtöne beim Wachstum auf synthetischen Nährmedien sowie durch reichliches Sporentragen des grauen Luftmyzeliums auf diesen Nährmedien.

Die Ausgangskultur wird im Submersverfahren auf dem Sojamehl-Stärke-Nährmedium gezüchtet.

209845 / 1169



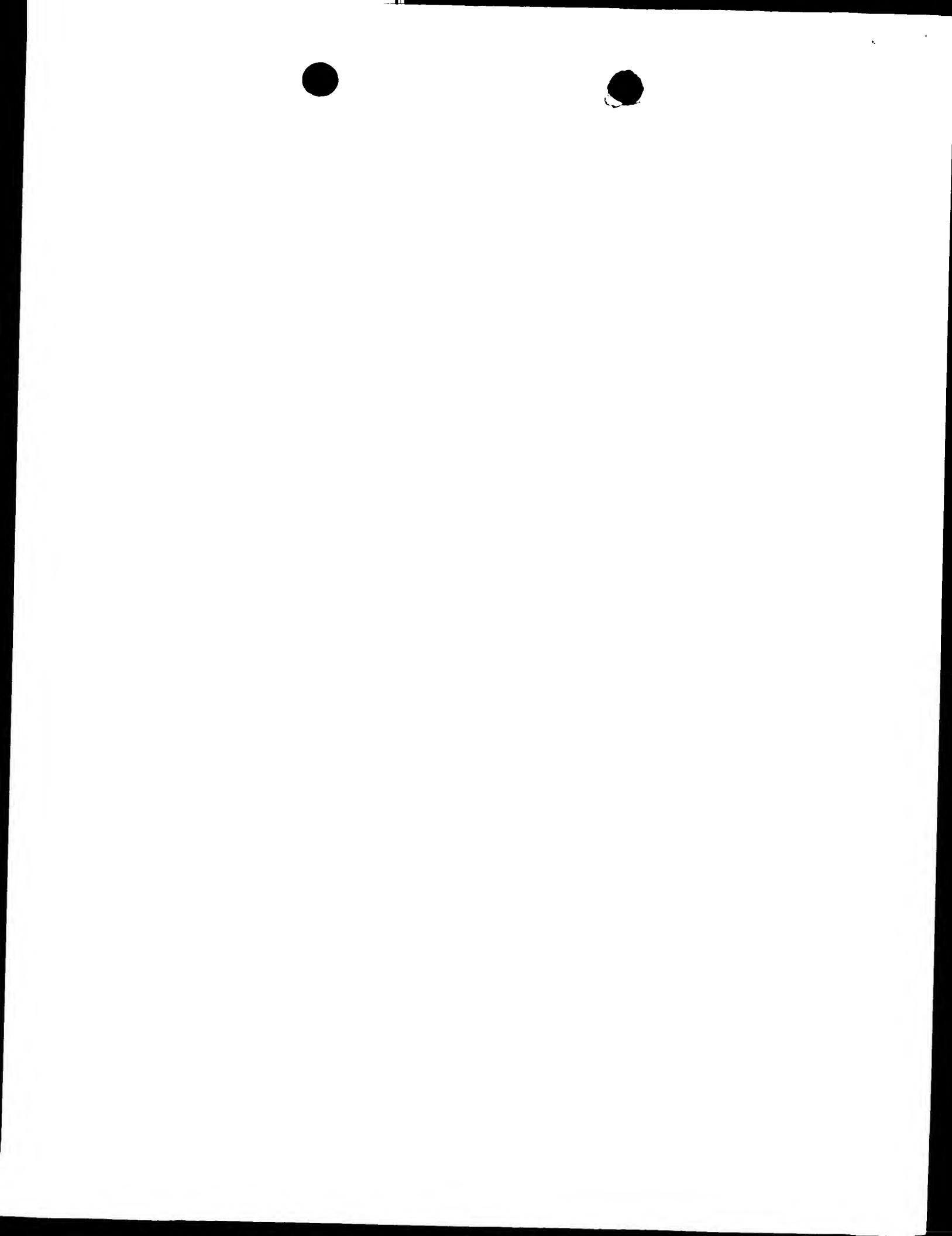
Das gleiche Nährmedium kann zur Züchtung von Impfmyzelium verwendet werden.

Das Antibiotikum ist im Myzelium enthalten, welches von der Kulturflüssigkeit durch Filtrieren abgetrennt wird. Das Antibiotikum extrahiert man mit Azeton aus dem Myzelium, das eine Feuchtigkeit von etwa 60 Gewichtsprozent aufweist. Die Extraktion wird 4 Mal durchgeführt. Für jede Extraktion nimmt man ein dreifaches Volumen von Azeton zum Gewicht des feuchten Myzeliums. Der erste wenig aktive Extrakt wird verworfen und dem Gemisch des zweiten und dritten Extraktes doppeltes Volumen von destilliertem Wasser zugesetzt.

Mit dem vierten Extrakt führt man die sekundäre Extraktion des Myzeliums der nächsten Fermentation durch. Es fällt kristallines Heliomyzin aus, welches abfiltriert und mit destilliertem Wasser gewaschen wird. Falls das Rohantibiotikum infolge einer Verunreinigung durch Öl schlecht trocknet, wird dieses zusätzlich mit Petroläther gewaschen. Die Ausbeute an Rohheliomyzin beträgt 4 Gewichtsprozent, bezogen auf das feuchte Myzelium. Das Rohpräparat enthält 80-85 Gewichtsprozent Heliomyzin, bezogen auf das chemisch reine kristalline Präparat.

Ein Vorteil des vorliegenden Verfahrens ist die Verwendung eines neuen und produktiveren Stammes, des Stammes Nr. 6383 *Actinomyces variabilis* var *roseousl*, bei dessen Verwendung die Ausbeute an kristallinem Heliomyzin auf 4 Gewichtsprozent, bezogen auf das feuchte Myzelium, gesteigert werden kann.

209845 / 1169



Beispiel

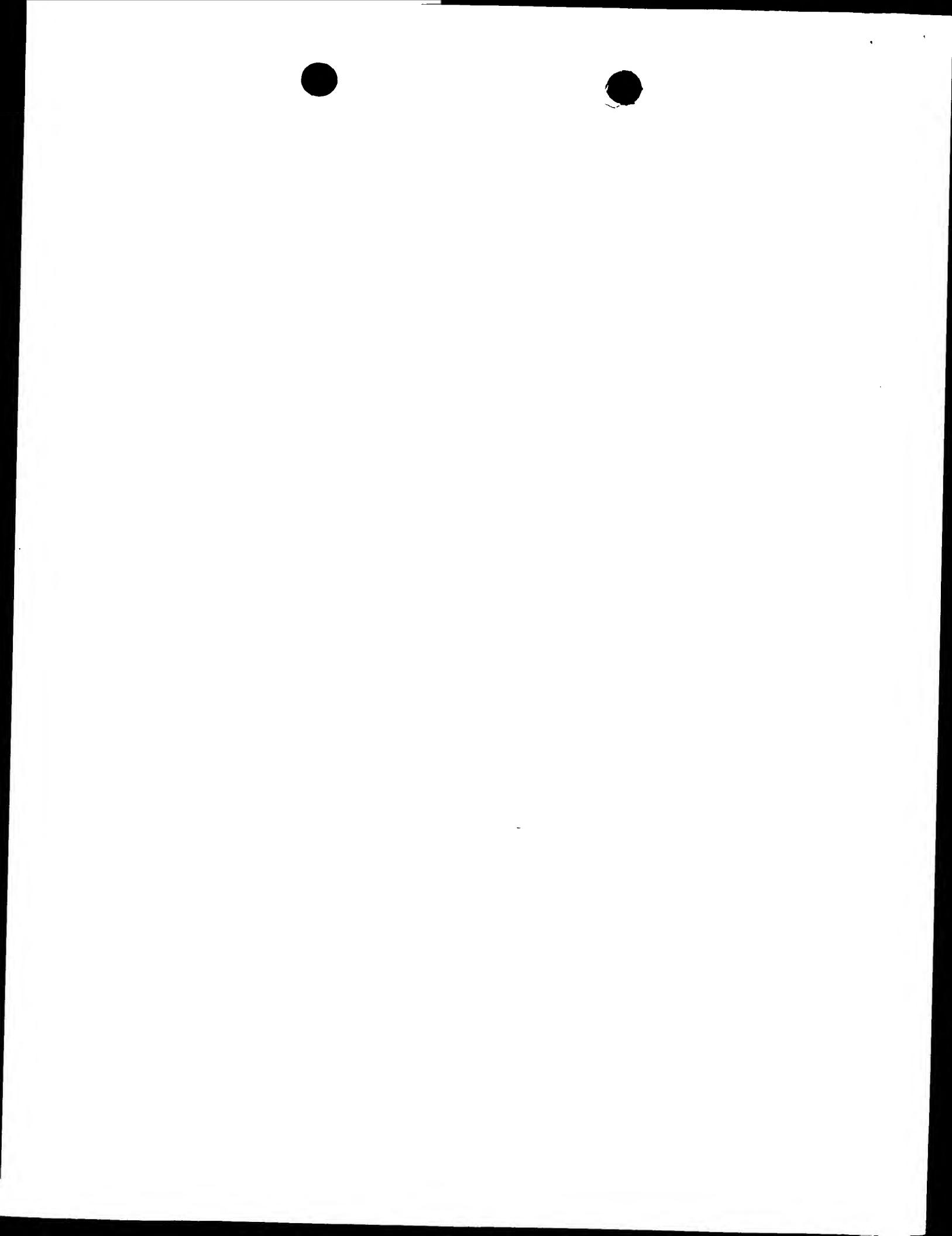
Zur Herstellung von Sporenmaterial züchtet man den Stamm Nr. 6383 *Actinomyces variabilis* var *roseolus* in Reagenzgläsern mit abgeschrägtem synthetischem Nährmedium Gause Nr. 1 während 10 Tage bei einer Temperatur von 28°C. Zur Herstellung von Impfmyzelium werden mit den Sporen der Kultur Erlenmeyerkolben von 500 ml Fassungsvermögen beimpft, die 100 ml Nährmedium der folgenden Zusammensetzung (in Gewichtsprozenten) enthalten: Sojamehl 1,0; Stärke 1,0; Natriumchlorid 0,3; Kalziumkarbonat 0,3; Kaliumdihydrogenphosphat; Wasser bis 100 ml, pH des Nährmediums nach der Sterilisation 7,0.

Das Impfmyzelium züchtet man in den Kolben 2 Tage bei einer Temperatur von 28°C auf Schaukeln, die bei 200 U/min arbeiten.

5 Gewichtsprozent des gezüchteten Impfmyzeliums (400 ml im Kolben) bringt man in Impf fermenter von 45 Liter Fassungsvermögen ein, die 20 Liter Nährmedium der folgenden Zusammensetzung (in Gewichtsprozenten) enthalten: Sojamehl 1,0; Stärke 1,0; NaCl 0,3; CaCO<sub>3</sub> 0,3; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0,1; Pottwaltran 0,1; Wasser bis 100 ml; pH des Mediums nach der Sterilisation 7,0.

Man sterilisiert 45 Minuten bei einer Temperatur von 120°C. Dann erfolgt die Züchtung bei einer Temperatur von 28°C unter einem Druck von 0,3 bis 0,5 at, bei einem Belüftungsgrad von 1 Liter Luft je 1 Liter Nährmedium in der Minute bei eingeschaltetem Rührwerk, das bei 300 U/min arbeitet.

209845/1169



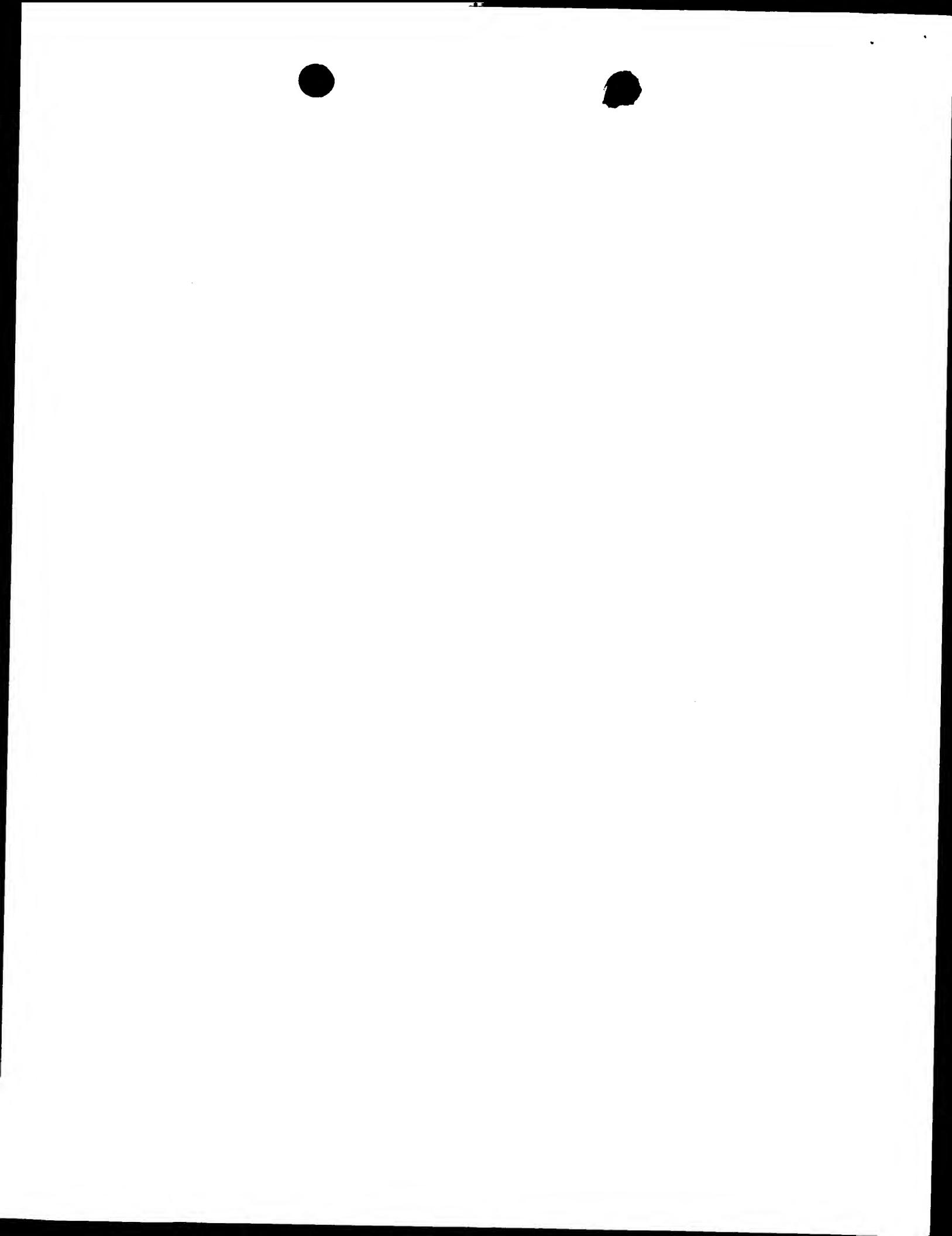
Nach 48 Stunden Züchten wird das Impfmateriel den Fermentern zugeführt. In die Fermenter von 500 Liter Fassungsvermögen bringt man Nährmedium der folgenden Zusammensetzung (in Gewichtsprozenten) ein: Sojamehl 1,0; Stärke 2,0; NaCl 0,3; CaCO<sub>3</sub> 0,3; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0,1; Pottwaltran 0,1; Wasser bis 100 ml, pH des Nährmediums nach der Sterilisation 7,0.

Man sterilisiert 45 Minuten bei einer Temperatur von 120°C. Die Beimpfung erfolgt aus den Impfapparaten, wobei man 20 Liter Impfmateriel je 300 Liter Nährmedium (5 bis 7 Gewichtsprozent Impfmateriel) nimmt. Die Fermentation erfolgt bei einer Temperatur von 28°C unter einem Druck von 0,3 bis 0,5 at, bei einem Belüftungsgrad von 1 Liter Luft je 1 Liter Nährmedium in der Minute bei eingeschaltetem Rührwerk, das bei 300 U/min arbeitet. Die Fermentation dauert 96 bis 120 Stunden.

Man filtriert die Kulturflüssigkeit und erhält gegen 30 kg Myzelium mit einer Feuchtigkeit von etwa 60 Gewichtsprozent.

Das Myzelium extrahiert man mit Azeton 4 Male. Für jede Extraktion nimmt man dreifaches Volumen von Azeton (90 Liter) zum Gewicht des feuchten Myzeliums. Der erste wenigaktive Extrakt wird verworfen und dem Gemisch des zweiten und dritten Extraktres doppeltes Volumen von destilliertem Wasser (360 Liter) zugesetzt. Dabei fällt das Rohheliozymin aus, welches man abfiltriert und mit destilliertem Wasser wäscht. Falls das Rohpräparat infolge einer Verunreinigung durch Öl schlecht

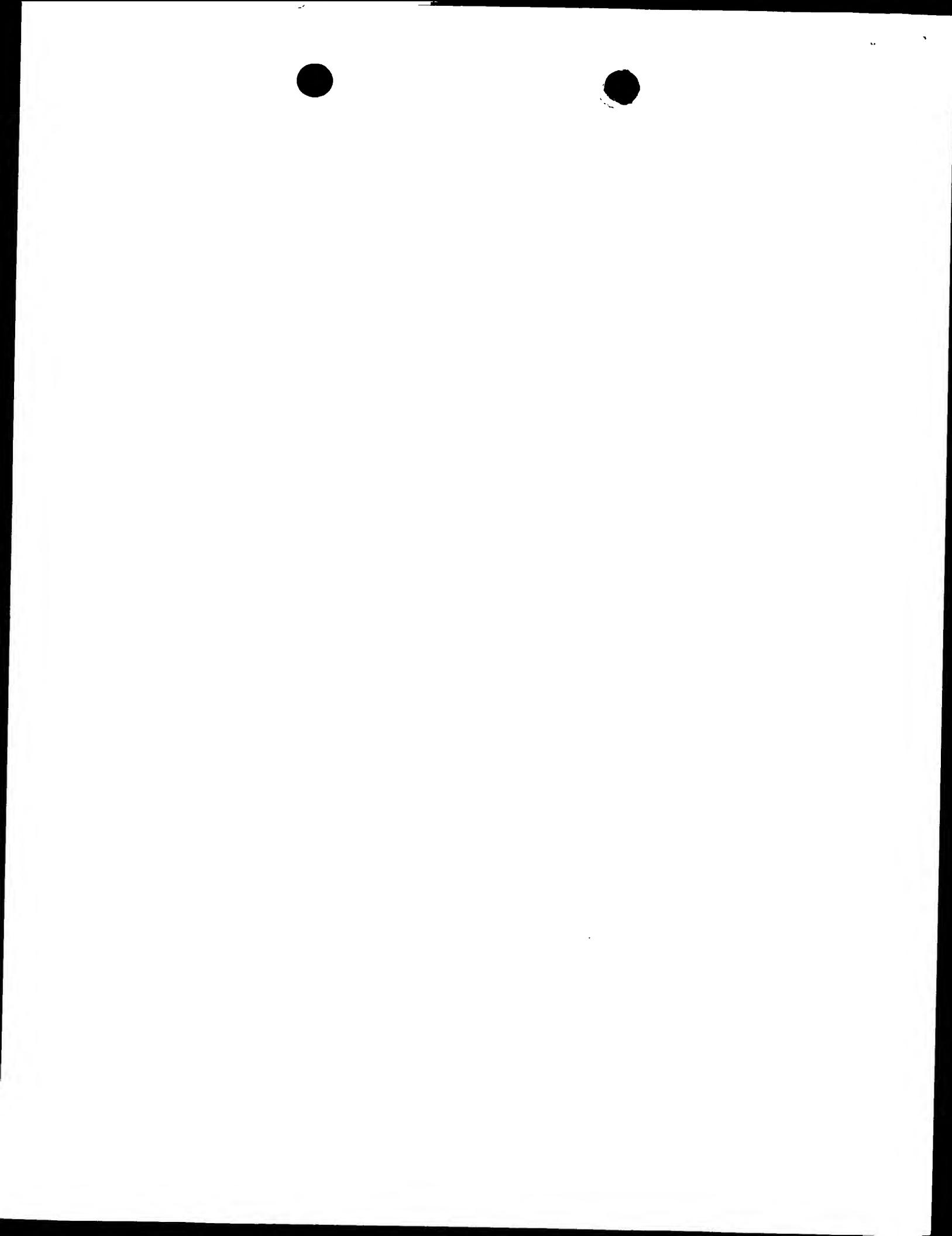
209845 / 1169



trocknet, wird es zusätzlich mit 5 bis 10 fachem Volumen von Petroleumäther zum kristallinen Rohpräparat gewaschen.

Die aus 30 kg feuchtem Myzelium (Feuchtigkeit 60%) erzielte Ausbeute an Rohpräparat beträgt 1200 g. Das Rohpräparat enthält 80 bis 85 Gewichtsprozent Heliomyzin, umgerechnet auf chemisch reines kristallines Präparat.

209845/1169



2212854

P A T E N T A N S P R U C H:

Verfahren zur Herstellung des Antibiotikums Heliomyzin durch Bereitung von Impfmateriel der Kultur des Heliomyzinproduzenten, Beimpften mit diesem von Nährmedium unter anschließender Fermentation, Abtrennung des Myzeliums und Isolierung des Endproduktes, dadurch gekennzeichnet, daß man als Kultur des Heliomyzinproduzenten den Stamm 6383 *Actinomyces variabilis* var *roseolus* verwendet, der durch folgende kulturmorphologische und physiologische Eigenschaften gekennzeichnet wird: er bildet auf dem mineralischen Nährmedium Gause Nr. 1 ein reichliches graues Luftmyzelium, das Substratmyzelium ist farblos, er färbt das Nährmedium schwach braun-rosa oder violettbraun, die Sporeenträger sind spiralförmig mit 2 bis 4 Windungen der Spirale, die Sporen sind mit langen Härchen bedeckt; auf dem organischen Nährmedium Gause Nr. 2 ist das Luftmyzelium zunächst cremefarben, dann grau, das Substratmyzel ist graubraun-gelb bis dunkelgraubraun; auf dem Czapek-Nährmedium und Lindenbein-Nährmedium ist das Luftmyzelium reichlich, grau, das Substratmyzelium braun; auf dem Glukose-Aspargin-Agar ist das Luftmyzelium spärlich, zunächst cremefarben, dann grau, das Substratmyzelium graubraungelb, färbt das Nährmedium nicht, nimmt auf flüssigen Nährmedien bei einer Temperatur von 28°C Laktose, Galaktose, Saccharose gut, Glukose mäßig und Dulzit schwach auf; abgetrennt aus dem Boden und selektioniert durch natürliche Wahl und Ultraviolettbestrahlung.

209845 / 1169

ORIGINAL INSPECTED

